

T.C.

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**GEBELİĞİN HİPERTANSİF HASTALIKLARINDA (PREEKLAMPSİ-
EKLAMPSİ, GESTASYONEL HİPERTANSİYON VE HELLP
SENDROMU) NORMAL GEBELİĞE GÖRE SERUM MUC3
PROTEİNİNİN DEĞİŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ayfer ÖZER CORA

UZMANLIK TEZİ

TRABZON

2012

T.C.

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**GEBELİĞİN HİPERTANSİF HASTALIKLARINDA
(PREEKLAMPSİ-EKLAMPSİ, GESTASYONEL HİPERTANSİYON
VE HELLP SENDROMU) NORMAL GEBELİĞE GÖRE SERUM
MUC3 PROTEİNİNİN DEĞİŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ayfer ÖZER CORA

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mesut Abdülkerim ÜNSAL

Doç.Dr.Süleyman Güven

TRABZON

2012

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca tüm tecrübe ve bilgilerinden yararlanmamı sağlayan başta Sayın Bölüm Başkanı Prof. Dr. Hasan BOZKAYA olmak üzere tüm hocalarıma, ayrıca benden ilgi ve desteklerini esirgemeyen ve bu tezin hazırlanmasında değerli katkı ve önerilerinden dolayı, Doç. Dr. İlknur TOSUN ve Sayın Danışman Hocalarım Prof. Dr. Mesut Abdülkerim ÜNSAL ile Doç. Dr. Süleyman GÜVEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca birlikte çalıştığım tüm asistan, hemşire, teknisyen, sekreter, diğer görevli arkadaşlara da teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Ayfer ÖZER CORA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii-iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v-vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
GRAFİKLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1-2
2. GENEL BİLGİLER	3-15
2.1. Gebelikte Fizyolojik Kan Basıncı Değişimleri	3
2.2. Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları	3-7
2.2.1. Gestasyonel Hipertansiyon	4
2.2.2. Preeklampsi	4-6
2.2.3. Eklampsi	6
2.2.4. Kronik Hipertansiyon Üzerine Eklenmiş Superimpoze Preeklampsi	6
2.2.5. Kronik Hipertansiyon	7
2.3. HELLP Sendromu	7-8
2.4. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri	8-9
2.5. Patofizyoloji	9-12

2.6.Mukoproteinler	12-15
2.6.1. Mukoproteinlerin Fonksiyonları ve Çeşitleri	12-15
3. MATERYAL VE METOD	16-21
3.1.Bireyler	16
3.2.Hasta Seçimi	16-17
3.3. Kan Örneklerinin Toplanması	17
3.4. Serumda Mukoprotein İçeriğinin Ölçülmesi	18-20
3.4.1. Serum Mukoprotein Ölçüm Prensipleri	18-19
3.4.2. Reaktiflerin Hazırlanması ve Deney Prosedürü	19-20
3.5. Diğer Bilgiler	21
4. BULGULAR	22-27
5. TARTIŞMA	28-31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
7. ÖZET	33
8. ABSTRACT	34
9. KAYNAKLAR	35-41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

IUGG/IUGR	: İntrauterin büyüme kısıtlılığı
NO	: Nitrik oksit
ESR	: Östrojen reseptör alfa
DIC/DIK	: Dissemine intravasküler kaogülasyon
MMP	: Matriks metalloproteinaz
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü
FAK	: Fokal adezyon kinaz
VSM	: Vasküler sitoplazma membranı
PGI ₂	: Prostaglandin
TXA ₂	: Tromboksan A ₂
RAAS	: Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
PG	: Prostaglandin
BE	: Baz eksisi
SGA	: Gebelik haftasına göre küçük
HLA-G	: İnsan lökosit antijeni-G
EVT	: Ekstravillöz trofoblast
RT-PCT	: Real Time Polimeraz zincir reaksiyonu
ANP	: Atrial natriüretik faktör
AFP	: Alfa fetoprotein
CRF	: Kortikoprotein serbestleştirici faktör
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
HELLP	: Hemoliz(H), yükselmiş karaciğer enzim düzeyi(Elavated Liver Enzymes) ve düşük platelet düzeyi(Low Platelet Count)
HT	:Hipertansiyon
DM	:Diabetes Mellitus
HRP	: Horseradish Peroksidaz
LDH	: Laktat dehidrogenaz.
VKİ/BMİ	: Vücut kitle indeksi

BUN	: Kan üre nitrojeni
NSAİİ	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
MUC	: Mukoprotein
ELISA	: Enzim bağımlı immüno assay
sVEGF	:Serum vasküler endotelyal büyüme faktörü

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1.1: Ağır preeklampsi için tanı kriterleri	5
Tablo 1.2: Hafif ve ağır preeklampsi bulgularının ayrımı	6
Tablo 2 : HELLP sendromunun klinik semptomları	8
Tablo 3 : Mukoproteinlerin sınıflandırılması	13
Tablo 4 : ELISA Kit Sistemi Elemanları	18
Tablo5.1: Çalışma grubu ve kontrol grubunun temel klinik özellikler açısından karşılaştırılması	23-24
Tablo5.2: Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeyleri açısından karşılaştırılması	25
Tablo5.3: Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeylerinin değişimi ve istatistiksel analizi	26

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Deney Prosedürü	20
---------------------------------	----

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1. Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeylerinin değişimi	27
---	----

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Gebeliğin hipertansif hastalığı, hafif kan basıncı yüksekliğinden organ disfonksiyonuna sebep olabilen ağır preeklampsiye kadar değişen, hipertansif durumların tamamını tanımlamakta kullanılır. Gebeliğin hipertansif hastalıkları, antenatal ve neonatal bakımdaki gelişmelere rağmen günümüzde hala maternal ve neonatal morbidite ve mortalitenin major nedenlerinden biridir. Gebelikte hipertansiyon, tüm gebeliklerin yaklaşık %5–10'unu etkilemektedir. Gelişmiş ülkelerde maternal mortalitede belirgin düşüşe rağmen, preeklampsi halen gebelik sırasındaki ölümlerin en sık nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir (1, 2).

Preeklampsi, multisistem bir hastalık olup, hala fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Hastalık gebeliğin sonlandırılmasıyla iyileştiği için, preeklampsinin patogenezinde plasenta ile ilgili sorunlar olduğu şüphesizdir. Preeklampsi fizyopatolojisinde yetersiz trofoblastik invazyon, plasental iskemi, generalize vazospazm, koagülasyon sisteminin aktivasyonu ile birlikte olan anormal hemostaz, vasküler endotel disfonksiyon, genetik yatkınlık, immünolojik patolojiler ve annenin vasküler endotel disfonksiyonu rol oynayabilmektedir (3). Preeklampside primer plasental defekt, ekstravillöz trofoblastların desiduaya yüzeyel invazyonudur. Bu durum yetersiz uteroplazental perfüzyona ve spiral arter yapısal değişiminin tamamlanmamasına neden olur. Normal gebeliğe nazaran preeklampstik gebeliklerde daha yüksek seviyelerde maternal dolaşıma sinsityotrofoblast partiküllerinin döküldüğü kanıtlanmıştır. Bu olayın preeklampside endotel hücre hasarını ve sistemik inflamatuvar yanıtı stimüle ettiğine inanılmıştır (4).

Müsinler çeşitli organların epitelyum hücreleri tarafından salınan glikolize edilmiş proteinlerdir. Normal gebelik ile karşılaştırıldığında preeklampsi ve eklampside yüksek serum mukoprotein oranlarına rastlanılmıştır (5). Hem serum hemde amniotik sıvı mukoprotein düzeylerinin hesaplanmasının, fetal iyilik halinin ve toksemisinin şiddetinin göstergesi olarak kullanılabilceği bulunmuştur (5). Ancak hangi mukoprotein çeşidinin fizyopatolojide rolü olduğu anlaşılabilmiş değildir.

İnsan plasentasında MUC 1, MUC 3, MUC 15 ve MUC 20 mRNA'sı tespit edilmiştir (4). MUC 1'in trofoblast invazyonu ve plasental gelişim disfonksiyonu ile ilişkili preeklampsi gibi hastalıklarda belirteç olabileceği gösterilmiştir (4).

Bu çalışmanın amacı gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi-eklampsi, HELLP sendromu tanısı alan gebeler ile normotansif sağlıklı gebelerde serum mukoprotein 3 düzeyinin hastalığın şiddeti ile korelasyonunu saptamak, hastalığın şiddetinin önceden öngörülmesinde bir parametre olarak kullanılabilirliğinin gösterilmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

Gebeliğin hipertansif hastalıkları, antenatal ve neonatal bakımdaki gelişmelere rağmen günümüzde hala maternal ve neonatal morbidite ve mortalitenin major nedenlerinden biridir. Son yıllarda her ne kadar hipertansif gebeliklerdeki perinatal mortalite hızı %10'un altına inmişse de, gebelik döneminde emboliden sonra en sık ikinci ölüm nedeni hipertansiyondur (1).

2.1. Gebelikte Fizyolojik Kan Basıncı Değişimleri

Gebeliğin 7. haftasından itibaren arteriyel kan basıncı azalmaya başlar. Diyastolik değerler, gebeliğin ortalarına gelindiğinde gebelik öncesi değerlerin ortalama 10 mmHg altına düşer. Kan basıncındaki düşmenin nedeni, artan kardiyak debiyi kompanse etmek amacı ile periferik vasküler direncin vazodilatasyon sonucu azalmasıdır. Ayakta ve oturur pozisyonda sistolik kan basıncı gebelik boyunca nispeten stabildir. Ancak diyastolik kan basıncı 28. haftada en belirgin olacak şekilde giderek azalır ve sonra yavaş yavaş artarak termde gebelik öncesi değerlere ulaşır. Bu dönemde kardiyak debi, göreceli olarak sabit kalır. Kardiyak debi, belirgin vazodilatasyondan dolayı kan basıncını korumak için yaklaşık % 40 artar. Kardiyak debideki bu artış ayrıca uterus ve fetusun yeterli oksijenizasyonunun sağlanması ve maternal metabolik hızdaki artışın desteklenmesi için gereklidir. Kardiyak debideki artış esas olarak 1. trimester sırasında atım volümü ve kalp hızındaki artışın sonucudur. Kan basıncındaki geçici artışlar erken postpartum dönemde de görülebilir (6,7).

2.2. Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları

NHBPEP (American National High Blood Pressure Education Program Working Group) 2000 yılında oluşturduğu kriterlere göre gebeliğin indüklediği hipertansiyon, gebe kadında gebelik öncesi kan basıncı değerleri normal olduğu halde gebeliğin 20. haftasından sonra 6 saat arayla yapılan en az iki ölçümde sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg veya diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olduğu durumdur (8,9). Geçmişte gebeliğin indüklediği hipertansiyon, hastanın önceki ortalama sistolik kan basıncında 30

mmHg ve üzerinde ve diyastolik kan basıncında 15 mmHg ve üzerinde artış saptanması olarak tanımlanırdı. Bununla birlikte bu tanımın prognoz açısından iyi bir gösterge olmadığı kabul edilmektedir (10).

NHBPEP tarafından 2000 yılında kabul edilen sınıflandırmaya göre gebeliği komplike hale getiren 5 tip hipertansif hastalık tanımlanmıştır (8). Bunlar:

1. Gestasyonel hipertansiyon
2. Preeklampsi (Hafif-Şiddetli)
3. Eklampsi
4. Kronik hipertansiyon üzerine eklenmiş, süperimpoze preeklampsi
5. Kronik hipertansiyon'dur.

2.2.1. Gestasyonel Hipertansiyon

Gestasyonel hipertansiyon, gebelikteki hipertansif hastalıkların büyük bölümünden sorumludur. Gebelikte hipertansiyon gelişen hastaların yaklaşık %70'inde gestasyonel hipertansiyon veya preeklampsi gelişebileceği bildirilmektedir (11).

Gestasyonel hipertansiyon tanısı, gebelik öncesi hipertansiyon hikayesi olmadığı halde gebeliğin 20. haftasından sonra kan basıncı 140/90 mmHg üzerinde ölçülen ve proteinürisi olmayan gebelere konur. Gebeliğin en geç 12. haftasında arteriyel kan basıncının normale dönmesi durumu da geçici hipertansiyon olarak adlandırılır (12).

2.2.2. Preeklampsi

Preeklampsi, vazospazm ve endotelyal disfonksiyon sonrası sekonder olarak gelişen azalmış organ perfüzyonu ile karakterize gebeliğe spesifik bir sendromdur. Preeklampsi gebeliğin başlangıcında kan basıncı normal olan bir kadında 20. gebelik haftasından sonra 6 saat arayla en az iki ölçümde ≥ 140 mmHg sistolik kan basıncı ve ≥ 90 mmHg diyastolik kan basıncı olması ile eşlik eden proteinüri ve/veya ödemin olduğu bir sendromdur. Görsel rahatsızlıklar, baş ağrısı ve epigastrik ağrı gibi pek çok belirti ve bulgu birlikte görülebilir. Proteinüri, idrar yolu enfeksiyonu dışlandıktan sonra 24 saatlik idrarda 300 mg veya daha fazla protein bulunması veya rastgele idrar örneklemesinde persistan 30mg/dL (1 + dipstick) protein olarak tanımlanır (1,8,12). Şiddetli preeklampsi ise gebeliğin başlangıcında kan basıncı normal olan bir kadında 20. gebelik haftasından sonra 6 saat arayla en az iki ölçümde ≥ 160 mmHg sistolik kan basıncı ve ≥ 110 mmHg diyastolik kan basıncı olması ve eşlik eden 24 saatlik idrar

örneğinde 5 g veya daha fazla veya en az 4 saat aralıklarla rastgele toplanmış iki idrar örneğinde 3 + dipstick veya daha fazla proteinüri saptanması durumu olarak tanımlanır (1,8,12) (Tablo 1.1) .

American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)'in Ocak 2002'de yayınladığı bülteninde şiddetli preeklampsi tanısı için Tablo 1.1'deki kriterlerden bir veya daha fazlasının bulunması gerekmektedir (1). Özellikle şiddetli preeklampside üriner dipstick değerlerinden çok 24 saatlik idrar proteininin daha güvenilir olduğu bildirilmektedir (13). Yine preeklampsili olgularda yaygın olarak özellikle el sırtında ve yüzde belirgin olan ödem bulgusu %35 normotansif gebede de belirgin olabileceğinden bir teşhis kriteri olarak kullanılmamaktadır (12).

Tablo 1.1 : Şiddetli preeklampsi için tanı kriterleri (1).

- Hasta yatakta istirahat halinde iken, en az 6 saat aralıklarla 2 kere ölçülen kan basıncının 160/110 mmHg ve daha yüksek olması
- 24 saatlik idrar örneğinde 5 g veya daha fazla veya en az 4 saat aralıkla rastgele toplanmış 2 idrar örneğinde 3 + veya daha fazla proteinüri
- 24 saatte 500 ml den az idrar miktarı (Oligüri)
- Bilinç bozukluğu, baş ağrısı, skotomlar, bulanık görme gibi serebral ve görsel bozukluklar
- Pulmoner ödem veya siyanoz
- Epigastrik yada sağ üst kadranda ağrısı
- Karaciğer fonksiyonlarının bozulması (AST düzeyinin 72 IU/L'nin üzerinde olması)
- Trombositopeni ($100.000/mm^3$ un altında)
- Fetusta gelişme geriliği

Tablo 1.2:Hafif ve Şiddetli preeklampsi bulgularının ayrımı.

Hafif preeklampsi	Şiddetli Preeklampsi
• Kan basıncı < 160/110 mmHg	• Kan basıncı >160/110 mmHg
• Proteinüri < 5gr / 24 saatlik idrarda	• Proteinüri > 5gr / 24 saatlik idrarda
• Trombosit sayısı >100.000/mm ³	• Trombositopeni
• Normal karaciğer enzimleri	• Karaciğer fonksiyonlarında bozulma
• Maternal semptomlar yok	• Serebral ve vizüel bozukluklar, epigastrik ağrı, bulantı, kusma • Oligüri (≤500 ml / 24 saatte) ve serum kreatinin seviyesinde yükselme
• İntrauterin büyüme geriliği ve oligohidramnios yok	• İntrauterin gelişme geriliği ve oligohidramnios olması

2.2.3. Eklampsi

Eklampsi, preeklampsi semptom ve bulguları olan gebelerde, gebelik sürecinde, doğum esnasında veya postpartum dönemde oluşan, diğer serebral durumlarla ilişkisi olmayan, açıklanamayan koma veya konvülsiyonların geliştiği tablodur. Bu konvülsiyonlar grand–mal yani tonik–klonik tiptedir (1).

2.2.4. Kronik Hipertansiyon Üzerine Eklenmiş Süperimpoze Preeklampsi

Süperimpoze preeklampsi, 20. gebelik haftasından önce hipertansif olduğu bilinen gebeye aşağıdaki bulgulardan en az birinin eklenmesidir (14).

- Yeni başlayan proteinüri (≥ 0.3 g / 24 saat)
- Daha önceden mevcut olan proteinüride ani bir artış,
- Tansiyonda ani yükselme,
- Trombositopeni ($<100,000/\text{mm}^3$),
- Karaciğer enzimlerinde artış

Baş ağrısı, skotom veya epigastrik ağrı gelişen kronik hipertansif kadınlar da süperimpoze preeklampsi olarak kabul edilebilir (1,14).

2.2.5. Kronik Hipertansiyon

Gebelikte kronik hipertansiyon sıklığının % 1 olduğu düşünülmektedir. Gebelikten önce var olan veya 20. gebelik haftasından önce sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg , diastolik kan basıncının ise ≥ 90 mmHg olması olarak tanımlanır (15,16). Ayrıca doğum sonrası 42. günden itibaren kan basıncı yüksekliğinin devam ettiği durumlar da kronik hipertansiyon olarak tanımlanmaktadır. Kronik hipertansiyonu olan gebelerde preeklampsi gelişsin veya gelişmesin intrauterin gelişme geriliği ve fetal ölüm görülme oranı oldukça yüksektir (17).

2.3. HELLP Sendromu

HELLP sendromu, tüm gebeliklerin % 0.1–0.6'sında, gebelikteki hipertansif hastalığın %4 ile %12'sinde görülen, hemoliz(H), yükselmiş karaciğer enzim düzeyleri (Elevated Liver enzymes) ve düşük trombosit sayısı (Low Platelet count) ile karakterize klinik sendromdur. Mortalitesi ve morbiditesi yüksektir. Trombositopeni($<100.000/mm^3$) en sık rastlanan bulgusudur (18). HELLP sendromu, preeklampsiye göre daha erken gebelik haftalarında ortaya çıkabilir (19). Vakaların yaklaşık olarak 1/3'üne ilk kez postpartum periyotta tanı konur. Preeklampsiden farklı olarak, HELLP sendromu sıklıkla multiparları ve beyazları etkilemektedir (20). HELLP sendromunun %20–25'i hipertansif olmayan gebelerde izlenebileceğinden, trombositopeni tanı için uyarıcı bir bulgudur. Hastalığın klinik semptomları Tablo 2'de özetlenmiştir (21).

HELLP sendromunda çoğunlukla gastrointestinal semptomlar olması nedeni ile ayırıcı tanıda, gebelikte akut karaciğer yağlanması, diabetes insipidus, glomerulonefrit, hemolitik üremik sendrom, hepatik ensefalopati, hiperemezis gravidarum, idiopatik trombositopeni, pyelonefrit, sistemik lupus eritematozus, trombotik trombositopenik purpura, hepatit, gastrit, pankreatit, kolesistit ve apandisit göz ardı edilmemelidir (22). Bir gebede bu tanıları düşünülürken, karaciğer fonksiyonunu gösteren enzim değerleri ve trombosit sayısı da takip edilmelidir (23). Hepatit sıklıkla daha yüksek bir karaciğer enzim seviyesi ve nadiren HELLP sendromundaki kadar anlamlı trombositopeni ile bulgu verebilir (24,25).

Tablo 2: HELLP sendromunun klinik semptomları (21).

Klinik semptomlar	%
Huzursuzluk	90
Bulantı kusma	36-50
Epigastrik ağrı	65-90
Sağ üst kadran ağrısı	80
Baş ağrısı	31
Sarılık	5
Yüksek tansiyon	80
Görme bozukluğu	6

2.4. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Preeklampsinin gerçek insidansı bilinmemektedir. Fakat yaklaşık %5-8 olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (26). HELLP sendromunun görülme sıklığı ise %0,3–0,8 oranındadır (1). Bozulmuş uteroplasental kan akımı veya plasental infarkt nedeniyle preeklampside İUGG, oligohidramnios, plasenta dekolmanı ve fetal distres gözlenebilir. Preeklampside neonatal morbidite sıklıkla respiratuvar distres sendromu, uzamış yoğun bakımda kalma süresi, nekrotizan enterokolit, intraventriküler kanama, sepsis ve ölüm dahil prematüritenin ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin sekelleriyle ilişkilidir (27,28).

Gebeliğin hipertansif hastalıklarının oluşumunda birçok faktör rol oynadığı için preeklampsi, eklampsi ve HELLP sendromu, multifaktöriyel hastalıklardır (1).

Preeklampsi oluşumunda, obstetrik ve non-obstetrik risk faktörleri önem taşımaktadır. Obstetrik risk faktörleri; primigravida, yeni eş, önceki gebeliklerde preeklampsi öyküsü olması, preeklampsi, eklampsi veya HELLP sendromlu aile öyküsü, çoğul gebelik, mol hidatiform, fetal hidrops, trizomi– 13’dür.

Obstetrik olmayan risk faktörleri ise obezite, renal ve vasküler hastalıklar, esansiyel hipertansiyon, diabetes mellitus, otoimmün hastalıklar (sistemik lupus eritematozus ve antifosfolipid sendromu), trombofilik durumlar, 35 yaş veya üzeri ya da 20 yaş altı siyah ırk (Afrikalı veya Amerikan ırk), sınırlı sperm maruziyeti, donör gametlerin kullanılmasıdır (1,12,29,30).

Bir gebeliğinde preeklampsi geçiren kadının sonraki gebeliklerinde tekrarlama riskinin %3,4 olduğu bildirilmiştir (31). Ayrıca bu gebelerde kronik hipertansiyon riski % 25 olarak bildirilmiştir. Yine ilk gebelikte görülen preeklampsi ikinci trimester gibi erken dönemlerde görülmüşse daha sonraki gebelikte görülme riski % 60 lara çıkmaktadır (32).

2.5. Patofizyoloji

Preeklampside glomerüler kapiller endotelial hücrelerde oluşan ve glomerüloendotelyozis adını alan değişiklikler, hipertansiyonun diğer şekillerinde veya renal hastalıklarda görülmez ve gebelikten sonra ortadan kalkar. Bu nedenle; her ne kadar önceden mevcut olan esansiyel hipertansiyon, mikrovasküler hastalıklar, endokrinolojik ve koagülatif bozukluklar preeklampsinin gelişmesine bir zemin hazırlasa da, preeklampsi farklı bir hastalık olarak ele alınmalıdır. Gebeliğin neden olduğu hipertansiyonun etyolojisi hala tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda birçok teori öne sürülmüştür.

Preeklampsik kadınlarda immünolojik fonksiyonlarda değişiklik olduğu gösterilmiştir (33,34). Genellikle ilk gebeliklerde olması, multiparlarda yeni eşinden veya donör inseminasyonu sonucu gebe kalmasıyla oranın artması immünolojik teoriyi desteklemektedir. Önceki gebeliklerin koruyucu etkisinin farklı eşle oluşan gebeliklerde kaybolabileceğini gösteren bazı çalışmalar vardır (35,36). Ayrıca ilk gebelikten önce artmış seksüel ilişkinin, fetal antijenin paternal komponenti ile maruziyetine neden olarak preeklampsi riskini azalttığı tespit edilmiştir (36,37). Plasental bölgedeki desidual damarlardaki patolojik değişiklikler akut immünolojik rejeksiyonlardaki vasküler değişiklikler gibidir (38).

İmmün kompleks bir durum olan preeklampside gebelik boyunca fetal antijenin maternal dolaşıma geçişi vardır. Eğer maternal antikor cevabı yeterli olursa, bu kompleksler retiküloendotelial sistem tarafından temizlenir ve doku hasarına neden olmaz. Antikor cevabı ve ortadan kaldırılması yetersiz olursa, oluşan immün kompleksler, vaskülit, glomerüler hasar ve koagülasyon sisteminin aktivasyonuna yol açar. Yetersiz cevap, ilk gebelikte yeteri kadar antikor oluşmamasına veya ikiz gebelikler, mol hidatiform, hidropik plasenta gibi trofoblastik dokunun artmış olduğu durumlarda yüksek miktarda antijenle karşılaşma durumuna bağlı olarak maternal

antikorların yetmemesinden kaynaklanabilir. İmmün kompleks depozisyonu ile uyumlu değişiklikler böbrek, karaciğer ve uteroplasental yatakta tespit edilmiştir (39,40).

İmmünolojik etyolojideki diğer bir hipoteze göre, plasental yataktaki spiral arterlerdeki vasküler değişiklikler anne ve fetus arasındaki allogreft rejeksiyonunun bir sonucudur. İnsan lökosit antijeni-G (HLA-G) sitotrofoblastlar üzerinde bulunan sınıf-1 antijendir. Klasik HLA' lerin aksine HLA-G antijeni tüm fetuslarda benzerdir. Bu nedenle anne ve fetus arasında normalde rejeksiyon beklenmez. Fakat HLA-G antijenin azaldığı durumlarda veya değişik HLA-G epitopları ile maruziyet, maternal immün cevaba neden olabilir. HLA-G'nin polimorfizminin preeklampitik hastalarda daha yaygın olduğu önerilmesine karşın bu bilgiler yetersizdir (41,42).

Chesley, Cooper ve Liston hastalığın genetik temeli üzerinde durmuşlardır (43,44,45). Bu araştırmacılar eklampsili kadınların kız çocuklarında gelinlerine göre daha yüksek risk saptamışlar ve resesif bir genden söz etmişlerdir.

Bununla birlikte multifaktöriyel kalıtımın da göz önünde bulundurulması gerekir. Beslenmede aşırılıklar ve yetersizliklerin, endotelinlerin, endotel kaynaklı genişletici faktörlerin ve diğer vazoaaktif maddelerin hastalığın etyolojisindeki rolleri hakkında çelişkili yayınlar vardır. Dizon-Townson ve arkadaşları faktör V Leiden mutasyonu sonucu oluşan protein C rezistansının şiddetli preeklampsi ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (46). Çoğul gebeliklerde veya trofoblastik hastalıklarda görülen aşırı plasantasyon veya uterin spiral arterlerin duvarlarındaki patolojiler gebeliğin hipertansif hastalıklarında defalarca raporlanmıştır. İkiz gebelik ve polihidramnios gibi uterusun gergin olduğu hallerde uterus kaslarında gerilme sonucu oluşan iskemi de suçlanan unsurlardandır.

Son zamanlarda, endotelial hücre harabiyeti ve trofoblastik hipoperfüzyon hastalığının patogenezinde suçlanmaktadır. Preeklampsinin gelişmesinde, erken patofizyolojik olayın plasental hipoperfüzyon olduğu öne sürülmektedir. Preeklampitik gebelerde trofoblastik hücreler invazyonda başarısızlık gösterip, muskulo-elastik elementleri kalan ve bu nedenle vazokonstrüksiyon yapan daha küçük çaplı damarlara dönüşürler. Bu tamamlanmamış spiral arter yeniden yapılanması uteroplasental hipoperfüzyona yol açar. Bu başarısızlık muhtemelen trofoblastların hücre yüzey reseptörlerinin

uyarılmasında immünolojik bir hatanın sonucudur. Etkilenen damarlar genellikle uterusun spiral arterlerinin terminal segmentleri olup vazodilatasyon yapamamaları sonucunda plasental kan akımında azalma görülür. Böylece birçok araştırmacı, sağlıklı kadınlarda preeklampsi gelişimini fetus ve anne arasındaki immünolojik etkileşimin yetersizliğine dayandırmışlardır. Sinsityotrofoblast mikropartiküllerinin normal gebeliğe nazaran preeklampside maternal sirkülasyona daha yüksek seviyelerde döküldüğü bulunmuştur. Bu durumun preeklampside sistematik inflamatuvar yanıtı ve endotelial hücre hasarını stimüle ettiğine inanılır (3).

Patogeneizde rol aldığı düşünülen endotelial hücreler; vazodilatör maddelerin sekresyonu, vasküler kompartmanın bütünlüğünün sağlanması ve intravasküler koagülasyonun önlenmesi gibi çeşitli görevlere sahiptir. Endotelial hücrelerin disfonksiyonu, preeklampside gözlenen birçok patofizyolojik değişikliğin sebebidir.

Endotelial hücreler prostasiklinin, trombositler ise tromboksanın salınımından sorumludur. Prostatiklin ($Pg I_2$) vazodilatör, tromboksan ise vazokonstrüktör özelliklere sahip olduğundan endotelial hücre harabiyeti; tromboksan/prostatiklin oranında artmaya, bu da aşırı vazospazma yol açar. İlaveten endotelial hücreler aynı zamanda endotelial kaynaklı genişletici faktör gibi vazodilatör maddeler ürettiklerinden, disfonksiyonları bu gibi faktörlerin üretiminde düşüşe neden olur.

Preeklampitik kadınların bütün vazokonstrüktörlerin etkilerine normal gebe kadınlardan daha hassas oldukları bilinmekte olup, içlerinde en iyi bilinen vazokonstrüktör, anjiyotensin-II'dir. Vasküler sitoplazma membranı (VSM)'nda anjiyotensin-II reseptör düzeyleri artar. Vazodilatör ve vazokonstrüktör eikosanoidler arasındaki fonksiyonel dengesizlik; preeklampsideki vasküler cevap kaybı ve vazokonstrüksiyonun ana sebebidir.

IUGR ve/veya fetal ölümle sonuçlanan şiddetli preeklampsilerde uteroplazental PgI_2 sentezinde eksiklik olup koruma mekanizması yoktur. Preeklampside endotelial hücre hasarı sonucu asıl olarak PG sentezi veya NO gibi maddelerin sentezinde azalmaya neden olabilecek platelet fonksiyon bozukluğu meydana gelmektedir.

Preeklampside görülen hemostatik sistem bozukluğu, DİK'te görülen fibrinojen azalması ve trombositopeniden çok, zarar görmüş endotel hücresine trombosit bağlanması sonucu oluşan lokal vasküler hasarlanmadır. Sadece bazı organlarda

(uteroplazental vasküler yatak, karaciğer ve böbrekler) fibrin ve trombin oluşumunda lokal artış olmaktadır.

HELLP sendromunun etyoloji ve fizyopatolojisinde diğer mikroanjiopatik hastalıklarda olduğu gibi endotel hasarı sorumlu tutulmaktadır. Vasküler endoteldeki intimal hasar nedeniyle trombositler aktive olur ve vazokonstriktif maddeler olan serotonin ve tromboksan salgınır. Trombosit agregasyonu endotel hasarında artışa neden olur. Bu şekilde prostasiklin ve nitrikoksit üretimi bozulur ve potent vazokonstriktör ajanlar olan endotelin ve tromboksan seviyeleri yükselir. HELLP sendromu olan hastalarda vazokonstriktör bir ajan olan endotelin, sağlıklı gebelere göre daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Karaciğer sinüzoidlerinde fibrin birikimi ile hepatosellüler hasarlanma oluşur. Hepatosellüler nekroz, iskemi ve ödem nedeni ile Glisson kapsülünde gerginlik ve ağrı hissi meydana gelir (47).

Yukarıda bahsedildiği gibi preeklampsinin etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte immünolojik etkileşimlerin önemi ve endotel hücre harabiyeti gün geçtikçe önem kazanan konulardır. Şiddetli hipertansiyon ve proteinüri gebe kadınların hemodinamikleri, artmış sistemik vasküler rezistansla birlikte azalmış kardiyak output ve düşük plazma volümüyle karakterizedir. Hastalıkta organ perfüzyonunda azalmaya ve sonuçta organ disfonksiyonuna yol açan en önemli olayın damar direncindeki artış olduğu düşünülmektedir.

2.6.Mukoproteinler

2.6.1.Mukoproteinlerin fonksiyon ve çeşitleri

Mukoproteinler, çeşitli organların epitelyum hücreleri tarafından salınan büyük oranda O-linked karbonhidratlardan oluşan ve yüksek miktarda glikolize edilmiş proteinlerdir (48). Protein omurgaları, serin ve treonin aminoasit rezidülerinden zengin, sekansı ve uzunluğu her bir mukoproteine özgü değişen sayılarda ardışık yineleyici bölgelerden ibarettir. (48,49,50). Mukoproteinlerin, normal fizyolojik şartlarda epitelyal dokuları koruduğu bilinmektedir. Bunun yanında, büyüme, fetal gelişim, epitelyal yenilenme ve farklanma, epitelyal bütünlük, hatta karsinogenez ve metastazda etkili oldukları düşünülmektedir (51). Mukoprotein gen ekspresyonu nispeten doku tipine spesifik olup, salınımları pH, oksijenasyon ve iyonik konsantrasyon açısından sürekli dalgalanma halinde olan, mikroorganizmalara, toksinlere, proteaz ve lipazlara maruz

kalan, genellikle dış çevre ile temas halinde olan epitelyal dokulardan yapılıdır (50,52). Genel yapıları ve biyokimyasal bileşimleri, hücre yüzeyi için protektif etkili olup, spesifik moleküler yapıları hücre yüzeyi etrafındaki lokal mikroçevreyi düzenler. Buna ek olarak, mukoproteinler, ayrıca hücre sel sinyal yolu ile dış çevre – epitel hücresi iletişiminden sorumludur (50,51).

Günümüzde, 20 çeşit mukoprotein tanımlanmıştır. Mukoproteinler, genel olarak sekrete edilen mukoproteinler ve membran ilişkili mukoproteinler olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Sekrete edilen mukoproteinler de jel oluşturan ve jel oluşturmeyen şeklinde iki gruba ayrılır (50). Mukoproteinler ve grupları tablo 3’te özetlenmiştir.

Tablo 3: Mukoproteinlerin Sınıflandırılması

Sekrete Edilen Mukoproteinler		Membran İlişkili Mukoproteinler	
Jel Oluşturanlar	Jel Oluşturmayanlar	MUC 1	MUC 13
MUC 2	MUC 7	MUC 3	MUC 15
MUC 5AC	MUC 8	MUC 4	MUC 16
MUC 5B	MUC 11	MUC 9	MUC 17
MUC 6		MUC 10	MUC 18
		MUC 12	MUC 20

Membran bağımlı mukoproteinlerin dış çevrenin sensörleri olarak görev gördüğüne inanılır. Örneğin MUC1’in aşırı salınımının kolon, pankreas, safra kesesi ve oral epitelyum invaziv ve metastatik tümörleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca MUC1’in tümör hücrelerinin invaziv ve metastatik faaliyetlerini düzenlediği tespit edilmiştir (53). Dişi üreme yollarında MUC1 çoğu türde uterin epitelyumdan eksprese edilir. Adeziv ve anti-adeziv aktiviteleri yoluyla embriyo tutunmasını regüle ettiğine inanılır (54). MUC1’in ayrıca fare, maymun ve insan trofoblastları tarafından eksprese edildiği bulunmuştur (55,56,57). MUC1’in trofoblastların uterin endotelial hücrelere

invazyonunda ve transendotelyal migrasyonda rolü olduğu düşünülmektedir (56).

MUC3 en çok barsak ve safra kesesinden salınan membran bağımlı mukoproteindir. Son zamanlarda MUC3'ün sistein zengin etkisi ile hücre migrasyonunu arttırdığı, apoptozisi inhibe ettiği ve yara iyileşmesini hızlandırdığı bulunmuştur (58).

Son dönemlerde, MUC15'in insan trofoblastları tarafından eksprese edildiği ve aşırı salınımının koryokarsinoma invazyonunu baskıladığı bulunmuştur (59). MUC15 böbrek ve akciğer dokularından da salınmaktadır.

Membran bağımlı musinler olan MUC1, MUC3, MUC15 ve MUC20 mRNA'sının insan plasentasından yüksek oranda salındığı tespit edildi. Yapılan çalışmalarda özellikle MUC15 ve MUC1'in insan plasentasındaki fonksiyonları araştırılmıştır. Ancak musinlerin birçok hücresel olayda rol oynamasına rağmen trofoblast düzeyindeki rolleri henüz açıklığa kavuşmamıştır. Membran bağımlı musinler çeşitli kanserlerde çalışılmasına rağmen plasentadaki fonksiyonları ve salınımları hakkında az bilgi vardır. Erken embriyonik gelişimde hücre invazyonu ve sinyalizasyon sürecinde önemli görevleri olabilir (59,60).

Shyu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada MUC15'in gebelik boyunca plasentadan salındığı gösterilmiştir. Erken gebelik haftasında term plasentaya göre daha düşük düzeyde MUC15 seviyesi tespit edilmiştir. Erken gebelik haftasında trofoblastların daha yüksek invaziv yeteneğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar MUC15 salınım düzeyinin trofoblast invaziv yeteneği ile ters orantılı olduğunu göstermektedir. MUC15'in aşırı salınımı trofoblast benzeri JAR ve JEG3 hücrelerinin invazyonunu baskılar. Bu durum, MUC15'in in vivo trofoblast invazyonunun negatif düzenleyicisi olabileceğini düşündürür. Bu sonuçlar göz önünde tutulduğunda membran bağımlı mukoproteinlerden olan MUC15'in erken gebelikte trofoblast invazyonunda kritik öneme sahip olduğu sonucuna varılabilir. Çünkü gebelik boyunca MUC15'in yüksek değerleri trofoblast invazyonunu baskılayıcı sinyaller verebilir (59).

Yine membran bağımlı mukoprotein olan MUC1'in de uterin endotelyal hücrelere trofoblast adezyonunda ve trofoblast transendotelyal migrasyonda rol aldığı düşünülmektedir (56). MUC1 mRNA ve MUC1 protein salınımının gebelik yaşıyla arttığı gösterilmiştir. Ayrıca MUC1 aşırı salınımının trofoblast benzeri JAR hücrelerinin

invazyonunu baskıladığı bulunmuştur. Bu sonuçlar MUC1'in trofoblast invazyonunda negatif regülatör olabileceğini düşündürmektedir.

Tümör invazyonu ile trofoblast invazyonunun biyokimyasal mekanizmaları ortaktr (59). MUC1'in çeşitli tümörlerde aşırı salındığı ve MUC1 aşırı salınımının tümöral hücre invazyonunu desteklediği tespit edilmiştir (61,62). Bunun tam aksine MUC1 ve MUC15 aşırı salınımının trofoblast benzeri JAR ve JEG3 hücrelerinin salınımını baskıladığı bulunmuştur. Bu sonuçlar invazyon açısından trofoblast kökenli hücrelerde musinlerin rolünün diğer epitelyum tiplerinden farklı olduğunu gösterdi. Bu işlev farklılığının nedeninin trofoblast benzeri hücrelerden salınan bazı faktörler olabileceği düşünölmektedir (63).

Biz, trofoblast invazyonunda bozukluk sonucu gelişen preeklampsi gibi gebeliği komplike eden hastalıklarda, plasentada sinsityotrofoblast yüzeyinden salınımı tespit edilmiş mukoproteinlerin, maternal sirkülasyona dökölerek artmış düzeylerinin ölçölebileceği hipotezinden yola çıkarak bu çalışmayı planladık. Mukoprotein 3 düzeyinin hastalığın şiddeti ile korelasyonunu saptayarak, hastalığın şiddetinin önceden öngörölmesinde kullanılacak bir parametre olup olmadığının gösterilmesini amaçladık.

3.MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Haziran 2010-Ocak 2011 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı gebe polikliniği ve obstetri servisinde, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın katkılarıyla gerçekleştirilmiştir.

3.1.Bireyler

27.05.2010 tarih 154 sayılı KTÜ Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulunun onayı ile Haziran 2010-Ocak 2011 tarihleri arasında, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı gebe polikliniğine hipertansiyon şikayeti ile başvuran hastalar arasından gebeliğin hipertansif hastalığı tanısı alan 60 olgu (çalışma grubu) ve 20 normotansif gebe (kontrol grubu) olmak üzere 80 olgu araştırma kapsamına alındı.

3.2.Hasta Seçimi

Gebeliğin hipertansif hastalığı tanısı ile değerlendirilen 120 olgu; araştırma onam formu imzalatıldıktan ve araştırmaya katılmak için gönüllü oldukları tesbit edildikten sonra araştırmaya kabul edilme ve edilmeme kriterleri açısından değerlendirildi.

Araştırmaya dahil edilme kriterleri;

- a) Araştırmaya katılma için onam'ı kabul edip formu imzalama,
- b) ACOG 2002'ye göre gebeliğin hipertansif hastalıklarının kriterlerini karşılaması (1), (Bkz sayfa 3-7).

HELLP sendromunun tanısı Sibai'nin tariflediği kriterlere göre konuldu. Bunlar; anormal periferik yayma, periferik yaymada şistosit, laktat dehidrogenaz >600 U/L, hemoliz, total bilirubin >1.2 mg/dl, AST>70 U/L, trombosit sayısı <100,000mm³ olmasıdır (20).

- c) İlk değerlendirmede tüm olguların demografik özellikleri ve özgeçmişleri sorgulandığında, kronik inflamasyona (Sistemik lupus eritromatozis, Romatoid

- Artrid vb) veya akut enfeksiyona (tonsillit, idrar yolu enfeksiyonu vb.) sahip olmamak, herhangi bir sistemik hastalığa(kronik renal hastalık, DM), tekrarlayan gebelik kaybı, trombofili, antifosfolipid antikor sendromuna sahip olmamak,(n=17 olgu bu kritere uymadığı için çalışmaya dahil edilmedi.)
- d) Sigara kullanmamak, (n=2 olgu sigara kullandığı için çalışmadan çıkarıldı.)
- e) Kanser öyküsü olmaması, (n=2, bir hastada tiroid kanseri, diğer hastada kolon kanseri olması nedeniyle dahil edilmedi.)
- f) Çoğul gebelik olmaması, (n=7 gebe çoğul gebelik olduğu için çalışmaya dahil edilmedi.)
- g) Antihipertansif, antikoagülan, NSAİİ, kortikosteroid veya antiplatelet ve antiepileptik gibi ilaç kullanmamak, (n=12, 8 hasta tekrarlayan gebelik kaybı ve antifosfolipid antikor sendromu nedeniyle antiplatelet tedavi, 1 hasta SLE nedeni ile steroid tedavi, 3 hastada kronik HT nedeni ile antihipertansif tedavi aldığı için çalışmaya dahil edilmedi.)

Kan basıncı ACOG'un 2002 de yayınladığı kriterlere göre ölçülmüştür (1).

Tüm katılımcıların yaş, gravida, parite, vücut kitle indeksi (VKİ), ilk tanıda ve doğumun olduğu gebelik haftası, başvuru sırasında sistolik ve diastolik kan basınçları, idrarda protein miktarı, hemoglobin, hematokrit, beyaz küre, trombosit sayısı, kan üre nitrojen (BUN), kreatinin, ALT, AST, LDH, ürik asit düzeyi, doğum şekli, 1. ve 5. dk APGAR skorları, yenidoğan ağırlığı, kord kan gazı ve BE, gebelik komplikasyonları ayrı ayrı kaydedildi.

3.3.Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışma için gerekli kan örnekleri hastaların rutin tetkikleri sırasında heparinsiz tüpe alınan örneklerden elde edildi. Maternal kan örnekleri, normal gebelerde doğum için başvurduklarında herhangi bir tedaviye başlamadan önce, preeklampitik–eklamptik, gestasyonel hipertansiyon ve HELLP sendromlu hastalarda tanı konulduğu anda alındı. Alınan kan örnekleri Eppendorf Santrifuge-5084R cihazında 3000 G de 10 dakika santrifuj edildikten sonra serumu ayrıldı. Alınan serumların bir kısmı 1,5 cc lik eppendorf tüpüne konularak, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki medikal soğutucuda (Ariston) -80 °C de saklandı.

3.4.Serumda Mukoprotein İçeriğinin Ölçülmesi

Tüm serum örnekleri (80 adet) toplandıktan sonra oda sıcaklığında çözüldü ve serum örneklerinde ticari ELISA kitleri yardımı ile MUC3 (Human Mucin 3, MUC3 ELISA Kit) düzeyi elde ölçüldü. Ölçüm tekniği prensibi aşağıda verilmiştir.

3.4.1.Serum Mukoprotein Ölçüm Prensibi

Mukoprotein 3 için özel ELISA kit sistemi ve elemanları yardımı ile serum içindeki mukoprotein içeriği ng/ml cinsinden tespit edildi. ELISA kit sistemindeki elemanlar tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4 : ELISA kit sistemi elemanları

Reaktif	Miktar
Deney Levhası	1
Standard	2
Örnek Seyreltici	1 x 20 ml
Deney Seyrelticisi A	1 x 10 ml
Deney Seyrelticisi B	1 x 10 ml
Tespit Ayracı A	1 × 120µl
Tespit Ayracı B	1 × 120µl
Yıkama Tamponu (25 x konsantre)	1 × 30ml
Substrat	1 × 10ml
Stop Solüsyonu	1 × 10ml
96 Kuyucuk için Levha Kapayıcısı	5 Adet
Kullanım Kılavuzu	1 adet

Bu kitler ile birlikte verilen her bir mikrotitrasyon levhası, Mukoprotein (MUC3) spesifik bir antikora önceden kaplandı. Standard veya örnekler, mukoprotein tipi için spesifik bir biotin konjüge poliklonal antikor preparatı ile birlikte uygun mikrotitrasyon levha kuyucuklarına eklendi. Daha sonra Avidin-Konjüge Horseradish Peroksidaz (HRP) her levha kuyucuğuna eklendi ve inkübe edildi. Ardından her kuyucuğa bir TMB substrat solüsyonu eklendi. İçinde sadece spesifik mukoprotein tipi, biotin konjüge antikor ve Avidin konjüge enzim içeren kuyucuklar renk değişikliği gösterdi. Enzim-substrat reaksiyonu, bir sülfürik asit solüsyonu eklenmesiyle sınırlandı ve renk değişimi spektrofotometrik olarak 450 nm dalgaboyunda ölçüldü. Herbir örnek için mukoprotein ölçümü yapıldı. Örneklerdeki MUC3 konsantrasyonu, daha sonra örneklerin optik dansitelerinin standard eğri ile karşılaştırılmasıyla belirlendi.

3.4.2 Reaktiflerin hazırlanması ve deney prosedürü

Tüm reaktifler, kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.

Yıkama tamponu: Konsantre içinde kristaller oluşmuşsa, konsantre oda sıcaklığına getirilip kristaller eriyinceye kadar nazikçe çalkalandı. 30 ml'lik yıkama tamponu konsantrasyonu, 750 ml'lik yıkama tamponu hazırlanacak şekilde deiyonize veya distile su ile dilüe edildi.

Standard: 1 ml'lik örnek seyrelticiyle standard oluşturuldu. Bu oluşum, 20 ng/ml'lik bir ana solüsyon yarattı. Seri dilüsyonlar yapmadan önce, standard hafif çalkalanarak 10 dakika kadar bekletildi. Dilüe edilmemiş standard, en yüksek standardı oluştururken (20 ng/ml) örnek seyreltici sıfır standardı yerine geçti (0 ng/ml).

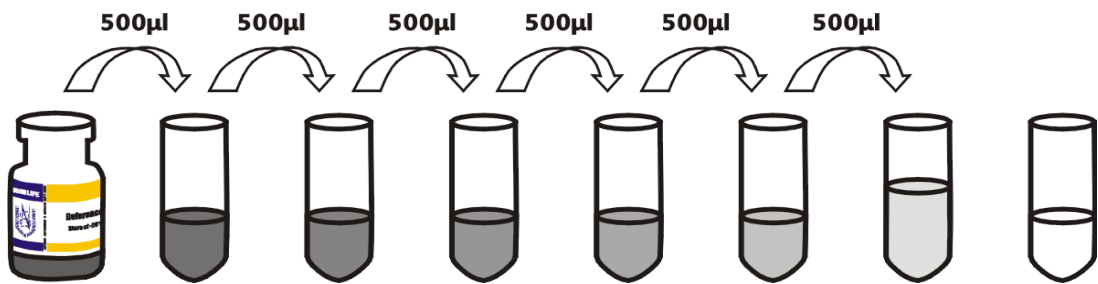
Tespit Reaktifleri (Ayrıçaları) A ve B: Sırasıyla, deney seyreltici A ve B kullanılarak ayrıçalar çalışma konsantrasyonlarına (1:100) seyreltildi.

Deney Prosedürü: Tüm reaktiflerin oda sıcaklığına ulaşması beklendikten sonra bütün reaktifler, pipetlemeden önce iyice karıştırıldı, köpürtmeden kaçınıldı. Bir deney için uygun strip sayısı belirlenerek, ekstra stripler mikrotitrasyon levhasından kaldırıldı. Kaldırılan stripler kapatıldı ve kitlerin son kullanma tarihine kadar 4 °C saklandı. Tüm reaktifler, çalışma standartları ve örnekler daha önceki bölümlerde anlatıldığı gibi hazırlandı.

Deney aşamaları (Şekil 1);

1. Her kuyucuğa Standard veya örnekten 100 µl eklendi. Üzeri kapatılıp 37°C’de 2 saat inkübe edildi.
2. Her kuyucuktaki sıvı yıkanmadan kaldırıldı.
3. Her kuyucuğa 100 µl Tespit Solüsyonu A çalışma solüsyonundan eklendi. Üzeri kapatılıp, 37°C’de 1 saat inkübe edildi. Tespit Solüsyonu A çalışma solüsyonu bulanık olduğu durumda, oda sıcaklığına getirilerek solüsyon üniform görüne kadar hafifçe karıştırıldı.
4. Her kuyucuk aspire edildi ve yıkandı. Bu işlem toplamda 3 kere yıkamak suretiyle 3 defa tekrar edildi. Enjektör, çok-kanallı pipet veya otomatik yıkayıcı kullanılarak, yıkama tamponu ile (yaklaşık 400 µl) her kuyucuk doldurularak yıkandı. Son yıkamanın ardından, geride kalan yıkama tamponu da aspire edildi. Levha ters çevrilip kağıt havlu ile kurutuldu.
5. Her kuyucuğa 100 µl Tespit Solüsyonu B çalışma solüsyonundan eklenip kuyucukların üzeri kapatıldı, 37°C’de 1 saat inkübe edildi.
6. 4. Basamakta anlatılan aspirasyon yıkama işlemi 5 kez tekrar edilip en son olarak renk değişimi spektrofotometrik olarak 450 nm dalgaboyunda ölçüldü ve standart eğrilere uygun olarak ng/ml cinsinden ölçüm yapıldı.

AnaStandard



Şekil 1 : Deney prosedürü

3.5. Diğer Bilgiler

Araştırma Bölgesi: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye.

Araştırma Tipi: Prospektif kohort çalışma.

Araştırma grubu: 01 Haziran 2010- 01 Ocak 2011 tarihleri arasında, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda değerlendirilen 20 gestasyonel hipertansiyonlu, 20 preeklampsi tanısı almış gebe(hepsi şiddetli preeklampsi kriterlerini karşılamaktaydı), 20 HELLP sendromu tanısı konmuş gebe ve 20 normal kan basıncına sahip sağlıklı gebe. Çalışma süreci boyunca kliniğimize başvuran 3 eklampsi tanısı almış olan hasta araştırmaya katılma kriterlerini karşılamadığı için çalışmaya dahil edilmedi.

Araştırma grubu büyüklüğü: Gebeliğin hipertansif hastalığı tanısı almış 60 gebe ve sağlıklı 20 gebe.

Bağımlı-bağımsız değişken: Bağımlı değişken: MUC3 düzeyleri. Bağımsız değişkenler: yaş, gravida, parite, vücut kitle indeksi (VKİ), tanı konduğunda ve doğum anındaki gebelik haftası, başvuru sırasında sistolik ve diastolik kan basınçları, idrarda protein miktarı, hemoglobin, hematokrit, beyaz küre, trombosit sayısı, kan üre nitrojen (BUN), kreatinin, ALT, AST, LDH, ürik asit, doğum şekli, 1. ve 5. dk APGAR skorları, yenidoğan ağırlığı, kord kan gazı ve BE, gebelik komplikasyonları

Veri kaynakları: Anket, laboratuvar sonuçları.

Araştırma süresi: 7 ay (01 Haziran 2010- 01 Ocak 2011)

İstatistiksel yöntemler: Tüm veriler SPSS 10.0 paket programında kodlanarak girildi. Dört grup verileri normal dağılıma uygunluk ve homojenite açısından değerlendirildi. Parametrik test varsayımları sağlandığında Tek Yönlü Varyans Analizi, (Benferonni düzeltmesi ile), sağlanmadığı durumda Kruskal Wallis Varyans Analizi testleri kullanılarak bilgisayar ortamında istatistiksel analiz yapıldı. Yüzde değerlerin karşılaştırılması için ki-kare testi kullanılmıştır. *P* değeri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma grubu ve kontrol grubunun temel klinik özellikler açısından karşılaştırılması Tablo 5.1’de verilmiştir.

Çalışma grubundaki olguların yaş ortalamaları ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0.05$). Yine gruplar arasında, gravida ve parite sayıları, vücut kitle indeksi, serum örneği alındığındaki gebelik haftası arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık görülmedi.

Çalışma grubunda sezaryenle doğum sayısı kontrol grubuna oranla daha fazla olmakla birlikte gruplar arasında doğum şekillerinin sayıları açısından istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$)

Gruplar arasında doğumun olduğu gebelik haftası ve doğum ağırlığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). HELLP sendromu en erken ortalama doğum haftasına sahip grup olup (**33.46 ± 3.14**) aynı zamanda bebek doğum ağırlığı da en düşük olan gruptur (**1798.67 ± 599.78**).

Ayrıca gruplar arasında sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, 1.dakika APGAR skoru, 5.dak APGAR skoru, ortalama kordon kanı BE açısından da anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$).

Tablo 5.1 : Çalışma grubu ve kontrol grubunun temel klinik özellikler açısından karşılaştırılması (Ortalamalar \pm standart sapma veya olgu sayısı ve parantez içinde yüzdeler olarak verilmiştir.)

	Çalışma grubu			Kontrol grubu (n=20)	p
	Gestasyonel hipertansiyon (n=20)	Şiddetli Preeklampsi (n=20)	HELLP Sendromu (n=20)		
Ortalama yaş (yıl)	33.40 \pm 6.20	29.89 \pm 7.67	31.25 \pm 6.15	33.20 \pm 5.23	0.265 ^a
Ortalama vücut kitle indeksi (kg/m ²)	33.75 \pm 7.04	31.67 \pm 3.10	29.71 \pm 3.47	32.15 \pm 4.37	0.071 ^a
Ortalama gravida (no.)	2.60 \pm 1.35	2.65 \pm 1.92	2.35 \pm 1.53	3.40 \pm 2.39	0.314 ^a
Ortalama parite (no.)	1.25 \pm 1.20	1.00 \pm 1.12	1.05 \pm 1.14	1.90 \pm 2.17	0.204 ^a
Ortalama gebelik haftası (hafta)	34.65 \pm 3.07	34.21 \pm 3.60	33.49 \pm 3.08	36.28 \pm 4.27	0.125 ^a
Ortalama doğum haftası (hafta)	36.19 \pm 1.96	35.37 \pm 2.51	33.46 \pm 3.14	37.60 \pm 2.18	<0.001 ^a
Ortalama sistolik kan basıncı (mmHg)	150.0 \pm 10.76	158.00 \pm 13.99	157.50 \pm 16.50	111.50 \pm 8.12	<0.001 ^a
Ortalama diastolik kan basıncı (mmHg)	95.00 \pm 6.88	100.50 \pm 7.59	100.50 \pm 9.44	72.75 \pm 6.38	<0.001 ^a
Doğum Şekli (%)					
Normal spontan vaginal doğum	5 (%25)	7 (%35)	4 (%20)	8 (%40)	0.497 ^b
Sezaryen	15 (%75)	13 (%65)	16 (%80)	12 (%60)	
Ortalama bebek doğum kilosu (g)	2995.00 \pm 723.01	2203.53 \pm 735.48	1798.67 \pm 599.78	3112.78 \pm 657.69	<0.001 ^a

Ortalama 1.dk APGAR skoru	8.50 ± 0.88	7.44 ± 1.46	6.18 ± 2.42	8.00 ± 1.29	<0.001^a
Ortalama 5.dk APGAR skoru	9.70 ± 0.57	9.05 ± 0.93	8.43 ± 1.63	9.47 ± 1.02	0.005^a
Ortalama kordon kanı pH	7.27 ± 0.08	7.28 ± 0.10	7.27 ± 0.06	7.30 ± 0.07	0.724^a
Ortalama kordon kanı BE	-1.23 ± 2.29	-3.90 ± 4.32	-2.49 ± 2.68	0.27 ± 2.02	0.005^a

^aKarşılaştırma için One-Way Anova testi kullanılmıştır. ^bKarşılaştırma için ki-kare testi kullanılmıştır.

Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeyleri (ng/mL) Tablo 5.2’te verilmiştir.

Tablo 5.2 : Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeyleri açısından değerlendirilmesi (ng/mL) (Ortalamalar \pm standart sapma değerleri verilmiştir.)

GRUPLAR		MUC3 düzeyi (ng/mL)
Kontrol grubu		0.1047\pm 0.0295
Çalışma grubu	Gestasyonel hipertansiyon	0.2172 \pm 0.0354
	Şiddetli preeklampsi	0.2700 \pm 0.0199
	HELLP sendromu	0.3494 \pm 0.0455

Kontrol grubunda ortalama serum MUC3 düzeyi **0.1047 \pm 0.0295 ng/mL** iken HELLP sendromu grubunda ortalama serum MUC3 düzeyi **0.3494 \pm 0.0455 ng/mL** olarak bulunmuştur (kontrol grubuna göre ortalama değişim düzeyi -0.2546 ± 0.0107 , bağımsız örnekleme Tek Yönlü Varyans Analizi, Benferonni düzeltmesi ile $p < 0.001$, %95 güven aralığı $-0.2836 - -0.2256$).

Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeylerinin değişimi ve istatistiksel analizi Tablo 5.3’te verilmiştir.

Tablo 5.3 : Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeylerinin değişimi ve istatistiksel analizi (Değişim ortalamaları \pm standart sapma değerleri verilmiştir.)

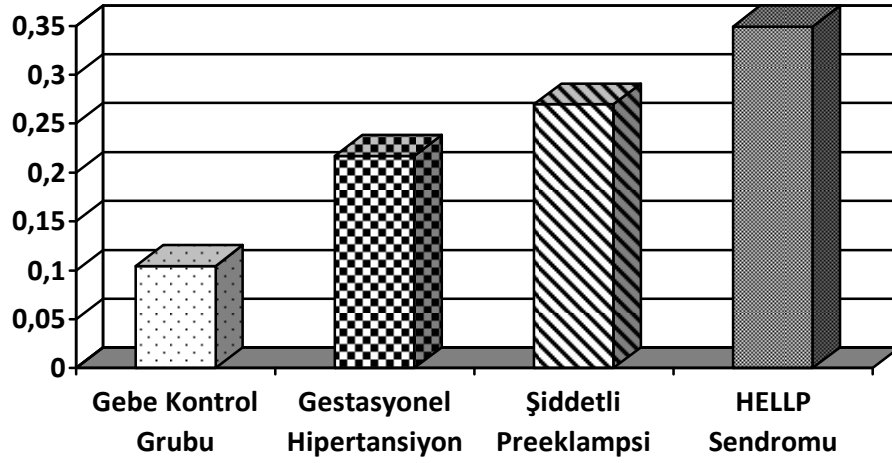
GRUPLAR		Ortalama değişim	p	%95 Güven aralığı
Gebe kontrol	Gestasyonel hipertansiyon	-0.1125 \pm 0.0107	<0.001	-0.1415- -0.0834
	Şiddetli preeklampsi	-0.1653 \pm 0.0107	<0.001	-0.1943- -0.1362
	HELLP sendromu	-0.2546 \pm 0.0107	<0.001	-0.2837- -0.2256
Gestasyonel hipertansiyon	Şiddetli preeklampsi	-0.0528 \pm 0.0107	<0.001	-0.0818- -0.0238
	HELLP sendromu	-0.1422 \pm 0.0107	<0.001	-0.1712- -0.1131
Şiddetli preeklampsi	HELLP sendromu	-0.0894 \pm 0.0107	<0.001	-0.1184- -0.0603

Karşılaştırma için bağımsız örnekleme Tek Yönlü Varyans Analizi, (Benferonni düzeltmesi ile) testi kullanılmıştır.

Kontrol grubuna göre ortalama serum MUC3 düzeyi değişimi en az gestasyonel hipertansiyon grubunda en çok olarak da HELLP sendromu grubunda olmuştur.

Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeylerinin değişimi grafik 1’de verilmiştir.

Serum MUC3 düzeyi(ng/mL)



Grafik 1: Çalışma grubu ve kontrol grubunun serum mukoprotein 3 (MUC3) düzeylerinin değişimi (Ortalama değerleri verilmiştir).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gebeliğin hipertansif hastalıklarında serum MUC3 değeri belirgin olarak artış göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Normal plasental gelişim esnasında, sitotrofoblastlar maternal spiral arteriyolları istila ederler. Bu durumdan hem endotel hem de musküler tabaka etkilenir ve spiral arteriyollar düşük dirençli yüksek kapasiteli damarlar haline gelir (61). Bu yeniden yapılanmanın 1.trimesterin sonlarında başladığı ve 18–20. gebelik haftalarında tamamlandığı varsayılır. Preeklampside, desidua ve spiral arterlere yüzeyel EVT invazyonu sonucu, yetersiz uteroplasental perfüzyon ve inkomplet spiral arter yeniden yapılanması meydana geldiği kabul edilmektedir (62,63). Preeklampsideki yetersiz trofoblast invazyonunun nedeni konusunda genetik, immünolojik ve çevresel faktörler sorumlu tutulmuştur. Moleküler düzeyde trofoblastların invazyonunda sitokinler, adezyon molekülleri, ekstraselüler matriks proteinleri, metalloproteinazlar, majör histokompatibilite kompleks-1B molekülleri ve HLA-G'nin ekspresyonunda değişiklikler rol oynar. Mukoproteinlerin trofoblast invazyonunu moleküler düzeyde inhibe ettiği düşünülmektedir (64).

Membran bağımlı musinler olan MUC1, MUC3, MUC15 mRNA'sının insan plasentasından yüksek oranda salındığı tespit edilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar (4,58,64) MUC1 ve MUC15 in plasental hastalıklardaki önemini gösterir niteliktedir. MUC1'in preeklampsi patogenezindeki rolü üzerine Shyu ve arkadaşlarını yaptığı bir çalışmada, MUC1 mRNA ve MUC1 protein düzeyinin, şiddetli preeklampside aynı gestasyonel haftadaki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde arttığı bulunmuştur (64). İmmünohistokimyasal analizlerde, şiddetli preeklampsi plasentasındaki EVT ve sinsityotrofoblastlarda MUC1 salınımının arttığı gösterilmiştir. MUC1 aşırı salınımının hücre-matriks adezyonunu baskılayarak EVT invazyonunu önlediği tespit edilmiştir. Bunu da β 1 integrin aktivitesini ve fokal adezyon kinaz (FAK) fosforilasyonunu inhibe ederek sağladığı bulunmuştur. Daha önceki çalışmalar, α 5 β 1 ve α 1 β 1 integrinin EVT migrasyon ve invazyonunda önemli rol oynadığını göstermiştir (65,66). Aynı zamanda FAK da EVT migrasyon ve invazyonunun sinyal yolağında önemli göreve sahiptir (67).

Bu verilere dayanarak, erken gebelik haftasında preeklampitik plasentada MUC1 molekülünün fazla salınımı sonucu EVT hücrelerinin invazyonunun azaldığı ve bu durumun tamamlanmamış spiral arter yeniden yapılanmasına ve hipoperfüzyona yol açtığı düşünülmektedir. MUC1 salınımının preeklampsi şiddeti ile doğru orantılı olarak arttığı, preeklampsinin progresyonunda plasentadaki MUC1 aşırı salınımının kritik rol oynadığı düşünülmektedir. Multifonksiyonel bir glikoprotein olan MUC1'in preeklampsi patogenezinde önemli bir yeri olduğu gösterilmiştir (64). Ancak MUC1 ile ilgili çalışmalarda preeklampsinin daha ciddi formu olan HELLP sendromu ile ilgili bilgi verilmemiş olup, mukoproteinlerin patogenezdaki rolü bilinmemektedir.

Çalışmamızda diğer bir plasental salınımlı mucus olan MUC3 değerlendirildi. Shyu ve arkadaşlarının bulgularına (64) benzer şekilde bu çalışmada normotansif kontrol grubuna göre plasental hastalıklar olan gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi ve HELLP sendromunda MUC3 düzeyinde anlamlı artış tespit edildi. Yine benzer şekilde hastalığın şiddeti ile doğru orantılı olarak MUC3 düzeyinin arttığı saptandı. Kontrol grubuna göre en yüksek MUC3 oranı, preeklampsinin ağır formu olan HELLP sendromunda tespit edildi. Gebe kontrol grubunda ortalama serum MUC3 düzeyi 0.1047 ± 0.0295 ng/mL iken HELLP sendromu grubunda ortalama serum MUC3 düzeyi 0.3494 ± 0.0455 ng/mL olarak bulundu. Bu sonuçlar MUC1 gibi MUC3'ün de preeklampsi patogenezinde önemli yeri olduğunu düşündürmektedir.

Mukherjee ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal ve toksemik gebelerde serum ve amniotik sıvıda mukoprotein konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Mukoprotein düzeyleri normal kontrollere göre toksemik gebelerde daha yüksek bulunmuştur (5). Serum ve amniotik sıvı arasında yapılan kıyaslamada ise amniotik sıvıda daha yüksek oranda mukoprotein düzeyi tespit etmişlerdir. Bu durumun amniotik epitelyum, koryon, umbilikal kord yüzeyi, fetusun gastrointestinal sisteminin direkt amniotik sıvıyla ilişkili olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Yine bu çalışmada, mukoprotein düzeyiyle fetal iyilik hali arasında ters bir orantı tespit edilmiştir. Hastalığın şiddeti ile mukoprotein miktarı artarken fetal iyilik halini gösteren APGAR skoru bu çalışmada düşük tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da 1.dakika APGAR skoru, 5.dak APGAR skoru, ortalama kordon kanı BE açısından gruplar arasında anlamlı fark saptandı. Normotansif kontrol grubuna göre hastalığın şiddeti arttıkça APGAR skorları ve kordon kanı BE değerinin azaldığı bulundu.

Preeklampsinin tahmini için atrial natriüretik peptit (ANP), hCG, alfafetoprotein (AFP), insülin benzeri büyüme hormonu bağlayıcı protein (insulin like growth factor binding protein-1), homosistein ve kortikotropin serbestleştirici faktör (Corticotropin releasing factor; CRF) gibi birçok biyokimyasal belirteç araştırılmış, fakat hiçbiri klinikte kullanışlı bulunmamıştır (68,69). Preeklampsi klinik tablosu oluşmadan yaklaşık 5 hafta önce sVEGFR-1'in maternal kanda arttığını gösteren çalışmalar vardır (70). Bizim çalışmamız sonucunda MUC3 düzeyinin preeklampsi şiddeti ile arttığını saptadık. Bu bulgular MUC3'ün preeklampsinin öngörülmesinde de kullanılabilecek bir belirteç olabileceği savını düşündürmektedir. Ancak bunun için daha farklı dizaynda araştırmalara gereksinim vardır.

MUC3'ün plasentadan salınımı tespit edilmiş olmasına rağmen, MUC1 ve MUC15 de olduğu gibi henüz salınım ve plasental invazyonu baskılama mekanizması açığa kavuşmamıştır. Kanser invazyonundan sorumlu tutulan mukoproteinlerin trofoblast invazyonundaki rollerini gösteren sınırlı çalışma mevcuttur. Shyu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (58) MUC15'in gebelik boyunca plasentadan salındığı gösterilmiştir. MUC15'in trofoblast invazyonunun inhibisyonunu matriks metalloproteinazı (MMP) inhibe ederek sağladığı bulunmuştur. MMP2 ve MMP9 trofoblast invazyonunda düzenleyici rol oynar. MMP inhibitörü olan TIMP-1 ve TIMP-2'nin insan trofoblastlarından salındığı tespit edilmiştir. MUC15'in trofoblast invazyonunu , TIMP-1 ve TIMP-2'nin salınımını arttırarak önlediği gösterilmiştir (59). Yine membran bağımlı mukoprotein olan MUC1 proteini gebelik boyunca insan plasentasından salındığı gösterilmiştir (4). Ayrıca insan desiduasında 2 tür ekstrasvillöz trofoblast (EVT) olduğu tespit edilmiştir. Bunlar MUC1 pozitif EVT ve MUC1 negatif EVT'dir. İnsan plasental gelişiminde MUC1 pozitif EVT sayısı daha fazla olduğu, MUC1'in EVT invazyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir. MUC1'in uterin endotelial hücrelere trofoblast adezyonunda rolü olduğu ve trofoblast transendotelial migrasyonda rol aldığı düşünülmektedir (56). Ancak Jescke ve arkadaşları 1. ve 2. trimesterde plasentada MUC1'in fazla salınımını tespit etmişlerdir. Bu farklılığın nedeninin, Jescke ve arkadaşlarının MUC1 salınımını sadece immünohistokimyasal analiz yapıp, protein sinyallerini kantitatif olarak saymamasından dolayı olabileceği düşünülmüştür (57). Ayrıca MUC1 aşırı salınımının trofoblast benzeri JAR hücrelerinin invazyonunu, MMP9 aktivitesinin inhibisyonu yoluyla baskıladığı bulunmuştur. Bu sonuçlar, MUC1'in trofoblast invazyonunda negatif regülatör olabileceğini düşündürmektedir. Normal plasental gelişim için MUC1'in

trofoblast invazyonunu kısıtladığı ve uygun endometrial derinliği kontrol ettiği düşünülmektedir. MUC1'in östrojen reseptör alfa (ESR 1) ve epidermal büyüme faktörü (EGFR) ile doğrudan etkileşimde olduğu ve bunların sinyallerini düzenlediği bulunmuştur (71,72). Bu durumda östrojenin ESR1 yoluyla primat plasentasında sinsityotrofoblastların farklılaşmasını regüle ettiğine inanılmaktadır (73). EGF, EGFR ile etkileşim yoluyla, sinsityotrofoblastlardaki Na^+/H^+ değişici aktiviteyi ve trofoblast apoptozunu düzenlediği düşünülmektedir (74,75). Ayrıca ESR1 ve EGFR 'nin insan sinsityotrofoblastları tarafından salındığı rapor edilmiştir (76,77). Bu nedenle, MUC1'in ESR1 ve EGFR sinyallerini düzenlemesi yoluyla sinsityotrofoblastların farklılaşmasını sağladığı ve biyolojik fonksiyonlarını düzenlediği düşünülmektedir. Bu çalışmalar trofoblastik dokuda MUC1 ve MUC 15'in moleküler düzeyde etkilerini gösterir niteliktedir. Çalışmamız ise klinik bir çalışma özelliğinde olup MUC 3'ün trofoblastik dokuda etkilerini hangi mekanizma üzerinden yaptığı incelenmemiştir. MUC3'ün trofoblastik doku üzerine etkilerini ve hangi mekanizmalar üzerinden trofoblastik doku invazyonunu engellediğini gösteren moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır. MUC3'ün plasental invazyon bozukluğu ile seyreden hastalıklarda artıyor olması MUC1 ve MUC15'e benzer şekilde plasental gelişim aşamasında EVT hücrelerinin invazyonunu azaltarak tamamlanmamış spiral arter yeniden yapılanmasına ve hipoperfüzyona neden olduğu fikrini akla getirmektedir.

Bu çalışma sonunda, gebeliği komplike eden, gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi ve HELLP sendromlu hastalarda, normotansif gebe kontrol grubuna göre hastalığın şiddeti ile serum MUC3 düzeyinin artmış olduğunu bulduk. Bu hastalarda serum MUC3 konsantrasyonunda artış görülmesi, MUC3'ün hipertansif hastalığın şiddetini gösterir bir belirteç olarak kullanılabilir olacağı savını desteklemektedir. MUC1'in preeklampsi patogenezinde önemli yeri olduğunun anlaşılması ile MUC3'ün de gebeliğin hipertansif hastalıklarının patogenezinde önemli yeri olabileceği savını düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gebeliğin hipertansif hastalıklarında serum MUC3 düzeyinin klinik önemini belirlemek amacıyla normal ve hipertansif gebelerde seçilmiş demografik ve klinik veriler incelenerek ve prepartum serum MUC3 düzeyi ölçülerek aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı:

- Gestasyonel hipertansiyon, şiddetli preeklampsi, HELLP sendromu ve gebe kontrol grubu, temel klinik özellikler (yaş, BMI, gravida, parite, serum örneğinin alındığı gebelik haftası, doğum şekli) açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.
- Doğum haftası, doğum kilosu, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, 1.dakika APGAR skoru, 5.dakika APGAR skoru, ortalama kordon kanı BE açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır.
- Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gebeliğin hipertansif hastalıklarında serum MUC3 değeri belirgin olarak artış göstermektedir.
- Gebe kontrol grubuna göre ortalama serum MUC3 düzeyi, değişimi en az gestasyonel hipertansiyon grubunda en çokta HELLP sendromu grubunda bulunmuştur.
- Serum MUC3 ölçümü, preeklampsi gibi plasental hastalıkların şiddetinin belirlenmesinde klinik bir belirteç olarak kullanılabilir.
- MUC3'ün plasental invazyonu baskılamadaki mekanizmasını araştıran geniş kapsamlı moleküler araştırmalara ihtiyaç vardır.
- MUC3'ün gebeliğin hipertansif hastalıklarında bir belirteç olarak kullanılabilirliğini gösterecek farklı dizaynda çalışmalar yapılması gerekmektedir.

7.ÖZET

Gebeliğin hipertansif hastalıkları maternal ve neonatal morbidite ve mortalitenin en sık nedenlerinden biridir. Mukoproteinlerin yüksek miktarda salınımlarının trofoblast invazyonunu baskılayarak preeklampsi patogenezinde rol aldığı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın amacı, gebeliğin hipertansif hastalıklarında maternal serum mukoprotein 3 düzeyinin araştırılmasıdır.

Haziran 2010- Ocak 2011 tarihleri arasında, yaşları 18 ile 44 arasında değişen (yaş ortalaması 31.96 ± 6.39) 20 normal sağlıklı gebe, 20 gestasyonel hipertansiyon, 20 preeklampsi ve 20 HELLP sendromu tanısı alan toplam 80 olgu çalışmaya dahil edildi.

Gebe kontrol grubuna göre ortalama serum MUC3 düzeyi değişimi en az olarak gestasyonel hipertansiyon grubu (-0.1125 ± 0.0107 , $p<0.001$) ile en çok olarak da HELLP sendromu grubu (-0.2546 ± 0.0107 , $p<0.001$) ile olmuştur.

Bu çalışma, gebeliğin hipertansif hastalıklarında maternal serum mukoprotein 3 düzeyinin ölçümü ile ilgili ilk çalışmadır. Gebe kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gebeliğin hipertansif hastalıklarında serum MUC3 değeri belirgin olarak artış göstermektedir.

Sonuç olarak gebeliğin hipertansif hastalıklarının şiddeti arttıkça, plazma mukoprotein 3 düzeyinin artabileceği, bu durumun hastalığın şiddetinin öngörülmesinde bir belirteç olarak kullanılabilmesi bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Gestasyonel hipertansiyon, Preeklampsi, HELLP, mukoprotein 3

8.ABSTRACT

Investigation of the Serum MUC3 Protein Levels in Gestational Hypertensive Disease (Preeclampsia-Eclampsia, Pregnancy Induced Hypertension and HELLP sendrome) Compared with Normal Pregnancy

Hypertensive diseases of pregnancy is one of the most frequently encountered reasons of maternal and neonatal morbidity and mortality. It is thought that excretion of high levels of mucoprotein takes part in the pathogenesis of preeclampsia through restraining trophoblast invasion.

The aim of this study was to investigate three maternal serum mucoprotein levels in hypertensive diseases of pregnancy.

Eighty cases consisting of 20 normal pregnancy, 20 gestational hypertension, 20 preeclampsia and 20 HELLP syndrome patients between the ages of 18 and 44 (average age 31.96 ± 6.39) during June 2010- January 2011 were included in this study.

Average serum MUC3 level differences were found the least in gestational hypertension (0.1125 ± 0.0107 , $p < 0.001$) and most in HELLP syndrome (-0.2546 ± 0.0107 , $p < 0.001$) compared with pregnant control group.

This is the first study measuring maternal serum mucoprotein 3 levels in hypertensive diseases of pregnancy. Serum MUC3 level showed a distinctive increase in hypertensive diseases of pregnancy compared with pregnant control group.

As a result it is found that plasma mucoprotein 3 level could increase as the severity of hypertensive diseases of pregnancy increases; and this could be used as a precursor for anticipation of the severity of the disease.

Key Words: Pregnancy Induced Hypertension, Preeclampsia, HELLP, Mucoprotein 3

9.KAYNAKLAR

1. ACOG committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol.* 2002; 99(1): 159-67.
2. National High Blood Pressure Education Working Group: High blood pressure during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1990; 163: 1689–1712.
3. Baha M.Sibai, MD;Diagnosis, Controversises, and Management of the Syndrome of Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, and Low Platelet Count:The American Collage of Obstetricians and Gynecologists, vol.103, NO.5,PART 1 , May 2004
4. Shyu MK, Lin MC, Liu CH, Fu YR, Shih JC, Lee CN, Chen HY, Huang J, Huang MC, Hsieh FJ: MUC1 Expression Increased Human Placental Development Suppresses Trophoblast-Like Cell Invasion in Vitro;*Biol Reprod.* 2008 Aug;79(2):233-9. Epub 2008 Apr 16.
5. Mukherjee G, Sharma D,Shanker V,Lal H;Serum and Amniotic Fluid Mucoproteins in Normal and Toxaemic Pregnancy:*Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 1994. 9(1)
6. de Swiet M. Cardiovascular physiology in normal pregnancy. In: Rubin PC, Ed. *Hypertension in pregnancy. (Handbook of Hypertension)* Amsterdam: Elsevier. 2000: 1–12.
7. Lindheimer MD. Hypertension in pregnancy. *Hypertension* 1993; 22: 127–137.
8. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy.Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1–22.
9. Walker JJ. Pre–eclampsia. *Lancet* 2000; 356: 1260–1265.
10. Levine RJ, Ewell MG, Hauth JC, Curet LB, Catalano PM, Morris CD et al. Should the definition of preeclampsia include a rise in diastolic blood pressure ≥ 15 mmHg to a level < 90 mmHg in association with proteinuria? *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:787-792.

11. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003; 102:181–192.
12. Cunningham FG: Hypertensive Disorders in Pregnancy (In): Gant NF, Leveno KJ, et al.(eds). *Williams Obstetrics*, 21th ed. New York: McGraw– Hill Comp. 2001: 567–618.
13. James DK: Hypertension in Pregnancy (In) : Steer PJ, Weiner CP, Gonik B, (Eds). *High Risk Pregnancy Management Options* 2 nd ed.WB Saunders,1999: 639–665.
14. Gofton EN, Capewell V, Natale R, Gratton RJ. Obstetrical intervention rates and maternal and neonatal outcomes of woman with gestational hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 798– 803.
15. Sibai BM. Hypertension in pregnancy in: Gabbe SG, Niebly JR, Simpson JL. *Obstetrics Normal & Problem Pregnancies*. Churcill Livingstone 1996, pp 935-987.
16. Dekker GA, Sibai BM. Early detection of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 1(165):160:172.
17. Evelyne R, Couturier A. The prognosis of pregnancy in women with chronic hypertension.*Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 1410-1416.
18. Baha M.Sibai. Hypertension. (In): Gabbe SG , Niebly JR, Simpson JL, (eds). *Obstetrics Normal and Problem Pregnancies* 4 th ed.Churcill Livingstone, 2002: 945–1004.
19. Audibert F, Friedman SA, Frangieh AY, Sibai BM. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 460–464.
20. Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol*. 1993; 69: 1000–1006.
21. Steegers EAP, van der Post JAM. Hipertension in pregnancy. In: Kurjak A. (eds). *Textbook of Perinatal Medicine*. 2nd edition. London, Parthenon Publishing Group.1998: 1889–1905.
22. Isler CM, Rinehart BK, Terrone DA, Martin RW, Magann EF, Martin JN Jr. Maternal mortality associated with HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 924–928.

23. Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): Much a do about nothing? *Am J Obstet Gynecol.* 1990; 162: 311–316.
24. Knox TA, Olans LB. Liver disease in pregnancy. *N Engl J Med.* 1996;335:569–576.
25. Rustgi VK, Liver disease in pregnancy. *Med Clin North Am.* 1989;73:1041–1046.
26. Hauth JC, Ewell MG, Levine RJ, Esterlitz JR, Sibai B, Curet LB et al. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas who developed hypertension. Calcium for Preeclampsia Prevention Study Group. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 24–28.
27. Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble Fms-like Tyrosine Kinase 1 and Endothelial Dysfunction in the Pathogenesis of Preeclampsia. *Pediatr Res.* 2005; 57: 2.
28. Sibai BM, Taslimi M, Abdella TN, Brooks TF, Spinnato JA, Anderson GD. Maternal and perinatal outcome of conservative management of severe preeclampsia in midtrimester. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 152: 32–37.
29. Lew M, Klonis E. Emergency management of eclampsia and severe preeclampsia. *Emerg Med* 2003; 15; 361–368.
30. Conde–Agudelo A, Belizan JM. Risk factors for preeclampsia in a large cohort of Latin American and Caribbean women. *Br J Obstet Gynecol* 2000; 107: 75–83.
31. August P: Hypertensive disorders of pregnancy. In .Burrow GN, Duffy T (eds). *Medical complications during pregnancy.* 5th ed. Pennsylvania, WB Saunders Company, 1999:53–79.
32. Sibai BM, Mercer B, Sarinoglu C. Severe preeclampsia in the second trimester; recurrence risk and long–term prognosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1991; 165:1408-1412.
33. Vinatier D, Monnier JC. Preeclampsia: Physiology and immunological aspects. *Eur J Obstet Gynecol* 1995; 61: 85–97.
34. Need JA. Preeclampsia in pregnancies by different fathers: immunological studies. *Br Med J* 1975;1:548–549.
35. Trupin LS, Simon LP, Eskenazi B. Change in paternity: A risk factor for preeclampsia in multiparas. *Epidemiology* 1996;7:240–244.
36. Marti JJ, Herman U: Immunogestosis: A new concept of essential EPH gestosis, with special consideration of the primigravid patient. *Am J Obstet Gynecol* 1977;128:489–493.

37. Robillard PY, Hulsey TC: Association of pregnancy induced hypertension preeclampsia, and eclampsia with duration of sexual cohabitation before conception. *Lancet* 1996; 347:619.
38. Kitzmiller JL, Stoneburner L, Yelenosky PF, Lucas WE. Serum complement in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1973;117:312–315.
39. Dekker GA, Sibai BM. The immunology of preeclampsia. *Semin Perinatol* 1999: 23: 24–33.
40. Redman CW. Treatment of hypertension in pregnancy. *Kidney Int* 1980;18:267–268.
41. O'brien M, McCarthy T, Jenkins D, Paul P, Dausset J, Carosella ED, Moreau P. Altered HLA-G transcription in preeclampsia is associated with allele specific inheritance : possible role of the HLA-G gene in susceptibility to the deceases. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 1943–1949.
42. Aldrich C, Verp MS, Walker MA, Ober C. A null mutation in HLA-G is not associated with preeclampsia or intrauterine growth reterdation. *J Reprod Immunol* 2000;47:41–48.
43. Chesley LC. *Hypertensive Dissorders in Pregnancy*. New York: Appleton-Century-Crofts; 1978:199.
44. Chesley LC, Cooper DW. Genetics of hypertension in pregnancy: Possible single gene control of preeclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynaecol* 1986;93:898.
45. Cooper DW, Liston WA. Genetic control of severe preeclampsia. *J Med Genet* 1979;16:409.
46. Dizon-Townson DS, Nelson LM, Easton K. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:902.
47. Oosterhof H, Voorhove PG, Aarnoudse JG. Enhancement of hepatic artery resistance to blood flow in preeclampsia in precense or absence of HELLP syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1994;171:526–530.
48. Gipson IK. Mucins of the human endocervix. *Front Biosci* 2001 Oct 1;6:D1245-55.
49. Lau SK, Weiss LM, Chu PG. Differential expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in carcinomas of various sites: an immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 2004 Jul;122(1):61-9.

50. Chauhan SC, Kumar D, Jaggi M. Mucins in ovarian cancer diagnosis and therapy. *J Ovarian Res* 2009;2:21.
51. Moniaux N, Escande F, Porchet N, Aubert JP, Batra SK. Structural organization and classification of the human mucin genes. *Front Biosci* 2001 Oct 1;6:D1192-206.
52. Zhao S, Hayasaka T, Osakabe M, Kato N, Nakahara K, Kurachi H, et al. Mucin expression in nonneoplastic and neoplastic glandular epithelia of the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol* 2003 Oct;22(4):393-7.
53. Kohlgraf KG, Gawron AJ, Higashi M, Meza JL, Burdick MD, Kitajima S, Kelly DL, Caffrey TC, Hollingsworth MA. Contribution of the MUC1 tandem repeat and cytoplasmic tail to invasive and metastatic properties of a pancreatic cancer cell line. *Cancer Res* (2003) 63:5011–5020.
54. Carson DD, Julian J, Lessey BA, Prakobphol A, Fisher SJ. MUC1 is a scaffold for selectin ligands in the human uterus. *Front Biosci* 2006; 11:2903–2908.
55. Shalom-Barak T, Nicholas JM, Wang Y, Zhang X, Ong ES, Young TH, Gendler SJ, Evans RM, Barak Y. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma controls Muc1 transcription in trophoblasts. *Mol Cell Biol* 2004; 24:10661–10669.
56. Thirkill TL, Cao T, Stout M, Blankenship TN, Barakat A, Douglas GC. MUC1 is involved in trophoblast transendothelial migration. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773:1007–1014.
57. Jeschke U, Richter DU, Hammer A, Briese V, Friese K, Karsten U. Expression of the Thomsen-Friedenreich antigen and of its putative carrier protein mucin 1 in the human placenta and in trophoblast cells in vitro. *Histochem Cell Biol* 2002; 117:219–226.
58. Shyu MK, Lin MC, Shih JC, Lee CN, Huang J, Liao CH, Huang IF, Chen HY, Huang MC, Hsieh FJ. Mucin 15 is expressed in human placenta and suppresses invasion of trophoblast-like cells in vitro. *Hum Reprod* 2007; 22:2723–2732.
59. Ho SB, Dvorak LA, Moor RE, Jacobson AC, Frey MR, Corredor J, Polk DB, Shekels LL. Cysteine-rich domains of muc3 intestinal mucin promote cell migration, inhibit apoptosis, and accelerate wound healing. *Gastroenterology* (2006) 131:1501–1517
60. Higuchi T, Orita T, Nakanishi S, Katsuya K, Watanabe H, Yamasaki Y, Waga I, Nanayama T, Yamamoto Y, Munger W, Sun HW, Falk RJ, et al. Molecular cloning, genomic structure, and expression analysis of MUC20, a novel mucin protein, up-regulated in injured kidney. *J Biol Chem* 2004; 279:1968–1979.

61. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ 1997 Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 99:2152–21
62. Fisher SJ 2004 The placental problem: linking abnormal cytotrophoblast differentiation to the maternal symptoms of preeclampsia. *Reprod Biol Endocrinol* 2:53
63. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA 2002 Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/ hypoxia with microvascular dysfunction. *Microcirculation* 9:147–160
64. Shyu MK, Chen CW, Lin NY, Liao WC, Chen CH, Lin CJ, Huang HC, Lee JJ, Huang MJ, Tseng GF, Shih JC, Lee CN, Hsieh FJ, Huang MC, MUC1 Expression Is Elevated in Severe Preeclamptic Placentas and Suppresses Trophoblast Cell Invasion via β 1-Integrin Signaling. *J Clin Endocrinol Metab*, December 2011,96(12):3759-3767
65. Damsky CH, Fitzgerald ML, Fisher SJ 1992 Distribution patterns of extracellular matrix components and adhesion receptors are intricately modulated during first trimester cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway, in vivo. *J Clin Invest* 89:210–222
66. Kabir-Salmani M, Shiokawa S, Akimoto Y, Sakai K, Iwashita M 2004 The role of $\alpha(5)\beta(1)$ -integrin in the IGF-I-induced migration of extravillous trophoblast cells during the process of implantation. *Mol Hum Reprod* 10:91–97
67. Iliæ D, Genbacev O, Jin F, Caceres E, Almeida EA, Bellingard- Dubouchaud V, Schaefer EM, Damsky CH, Fisher SJ 2001 Plasma membrane-associated pY397FAK is a marker of cytotrophoblast invasion in vivo and in vitro. *Am J Pathol* 159:93–108
68. Pouta AM, Hartikainen AL, Vuolteenaho OJ, Ruokonen AO, Laatikainen TJ. Midtrimester N-terminal proatrial natriuretic peptide, free beta hCG, and alpha-fetoprotein in predicting preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 1998; 91: 940-944.
69. Florio P, Imperatore A, Sanseverino F, Torricelli M, Reis FM, Lowry PJ, Petraglia F. The measurement of maternal plasma corticotropin-releasing factor (CRF) and CRF-binding protein improves the early prediction of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 4673-4677.

70. Chairworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ et al. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005
71. Wei X, Xu H, Kufe D. MUC1 oncoprotein stabilizes and activates estrogen receptor alpha. *Mol Cell* 2006; 21:295–305.
72. Schroeder JA, Thompson MC, Gardner MM, Gendler SJ. Transgenic MUC1 interacts with epidermal growth factor receptor and correlates with mitogen-activated protein kinase activation in the mouse mammary gland. *J Biol Chem* 2001; 276:13057–13064.
73. Pepe GJ, Albrecht ED. Regulation of functional differentiation of the placental villous syncytiotrophoblast by estrogen during primate pregnancy. *Steroids* 1999; 64:624–627.
74. Moll SJ, Jones CJ, Crocker IP, Baker PN, Heazell AE. Epidermal growth factor rescues trophoblast apoptosis induced by reactive oxygen species. *Apoptosis* 2007; 12:1611–1622.
75. Johnstone ED, Speake PF, Sibley CP. Epidermal growth factor and sphingosine-1-phosphate stimulate Na^+/H^+ exchanger activity in the human placental syncytiotrophoblast. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293:R2290–R2294.
76. Evain-Brion D, Alsat E. Epidermal growth factor receptor and human fetoplacental development. *J Pediatr Endocrinol* 1994; 7:295–302.
77. Schiessl B, Mylonas I, Kuhn C, Kunze S, Schulze S, Friese K, Jeschke U. Expression of estrogen receptor-alpha, estrogen receptor-beta and placental endothelial and inducible NO synthase in intrauterine growthrestricted and normal placentals. *Arch Med Res* 2006; 37:967–975.